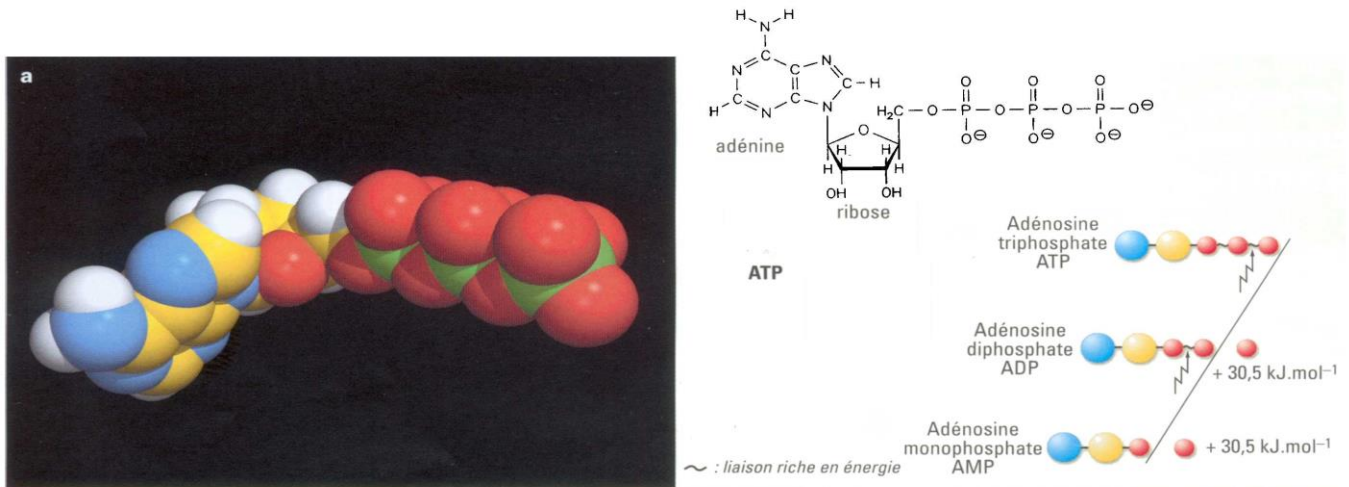


L'utilisation d'ATP au sein des cellules

Document 1 : La molécule d'ATP.

L'ATP est une molécule qui contient deux liaisons particulièrement riches en énergie. Cette énergie est libérée lors de l'hydrolyse de l'ATP en ADP + Pi.



Modèle de la molécule d'ATP (a) ; structure et dégradation de l'ATP (b). La molécule d'ATP est un ribonucléotide, comme l'ADP et l'AMP, ses produits de dégradation. L'hydrolyse des deux derniers groupements phosphate de l'ATP libère de l'énergie réutilisable par la cellule.

Document 2 : l'ATP et l'activité cellulaire. Protocole de l'utilisation d'un inhibiteur de synthèse d'ATP.

Nous voulons montrer que l'ATP est indispensable aux mouvements cellulaires ou intra-cellulaires.

Matériel :

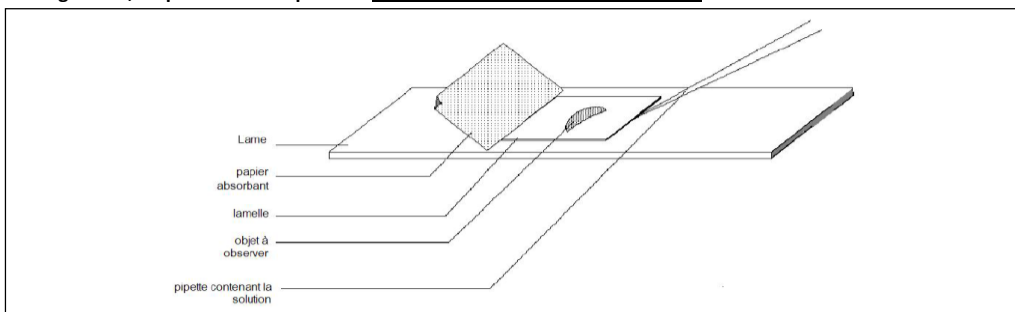
Microscope optique, gants et lunettes de protection, dispositif d'acquisition, solution tampon contenant un inhibiteur de la production d'ATP (ATTENTION : produit toxique à manipuler avec grande précaution : lunettes, gants, blouse), solution tampon sans inhibiteur, feutres, 2 pipettes, 1 pipeteur.

Principe :

Vous allez mettre les Euglènes ou les feuilles d'Élodée en présence d'un inhibiteur de la synthèse d'ATP. Cet inhibiteur est dissous dans une solution tampon destinée à éviter les variations brusques de pH. Vous mettrez aussi une préparation des mêmes cellules en présence de la solution tampon sans inhibiteur (témoin). Vous observerez les deux lames au microscope optique, et ferez une acquisition vidéo dans les deux cas.

Les activités cellulaires consomment un intermédiaire métabolique, l'ATP, produit au cours de la respiration. Au nombre de ces activités, la cellule chlorophyllienne comme l'Euglène peut se déplacer activement et les cellules de l'Élodée présentent des mouvements du cytoplasme observables par le déplacement des chloroplastes : c'est la cyclose. On cherche à montrer que l'ATP est indispensable à ces mouvements cellulaires et cytoplasmiques. Pour cela, on réalise une expérience puis on discute de sa validité.

- 1- Prélevez une goutte de suspension d'euglènes ou une feuille d'Élodée et montez-la entre lame et lamelle. Annotez au feutre votre lame « ATP ».
- 2- Répétez l'opération avec une deuxième lame, que vous annoterez « témoin ».
- 3- Observez les deux lames au microscope optique. Laissez la lame notée « ATP » sur la platine.
- 4- Préparez le système d'acquisition (mise en place de la caméra, mise en route du logiciel).
- 5- Lancez l'acquisition puis au bout d'une minute arrêtez l'acquisition et enregistrez le fichier vidéo obtenu (sur le bureau ou une clé USB si vous en avez).
- 6- Faites diffuser l'inhibiteur de la production d'ATP dans la préparation filmée en suivant les indications du schéma suivant. **Attention, opération délicate et dangereuse, ne pas toucher le produit. (gants, lunettes, blouse obligatoires).**



- 7- Faites diffuser en même temps le tampon seul sur l'autre lame notée « témoin ».
- 8- Lancez une nouvelle acquisition de la lame « ATP » durant une minute. Enregistrez, comparez avec votre première acquisition.
- 9- Observez simplement le résultat pour l'autre préparation. **Analysez vos observations.**
- 10- Rangez le matériel, sans nettoyer la lame « ATP » que vous laisserez sur la pailleuse professeur dans la cuvette prévue à cet effet.

Document 3 : les rôles de l'ATP ou d'autres formes d'énergie dans la cellule.

Sources : Wikipedia et http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/atp/roles_atp.html - modifiées

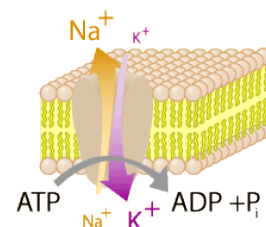
Les êtres vivants tirent leur énergie de l'oxydation des nutriments, et ceci est vrai même pour les plantes chlorophylliennes (qui utilisent l'énergie des photons pour fabriquer de la matière organique qui pourra être oxydée ultérieurement). Cependant, l'énergie libérée lors de cette oxydation n'est pas directement utilisable par les cellules. Elle est captée par un intermédiaire qui, dans l'immense majorité des cas, se révèle être l'ATP. En effet, de très nombreux événements cellulaires ou réactions métaboliques énergétiquement défavorables peuvent se dérouler grâce à la rupture de la **liaison phosphoanhydride** riche en énergie d'une molécule d'ATP. On peut citer différents exemples comme :

- Les **synthèses** notamment les synthèses de diholosides comme le saccharose ou de polymères glucidiques (polyholosides) comme l'amidon ou le glycogène. Ces réactions nécessitent la formation de molécules « chargées » énergétiquement c'est-à-dire des molécules qui possèdent au moins un groupement phosphate transféré par une molécule d'ATP ou d'UTP (il existe même du GTP, du TTP et du CTP). Ces molécules comme le glucose-phosphate sont des intermédiaires phosphorylés et conservent une liaison riche en énergie, utilisable par la suite :

Synthèse de l'amidon ou du glycogène : $\text{glucose} + \text{ATP} \rightarrow \text{glucose}\sim\text{P} + \text{ADP}$ puis $\text{glucose}\sim\text{P} + \text{amidon (n)} \rightarrow \text{amidon (n+1)} + \text{P}_i$

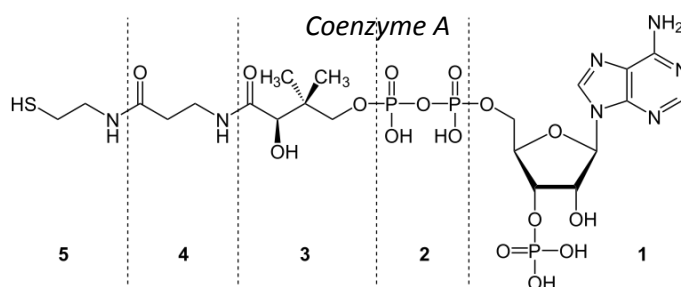
Synthèse du saccharose : $\text{P}\sim\text{fructose} + \text{UDP}\sim\text{glucose} \rightarrow \text{P}\sim\text{saccharose} + \text{UDP}$

- le **transport actif** effectué par l'ATPase sodium potassium, qui assure le maintien des déséquilibres ioniques de part et d'autre des membranes cellulaires en permettant le passage du sodium et du potassium tous deux contre leur gradient électrochimique respectifs. La pompe Na-K échange ainsi 3 Na⁺ contre 2 K⁺.



- La **synthèse d'acétylcholine** (l'un des principaux neuromédiateurs) à partir d'acétate (CH₃-COO⁻) et de choline (2-hydroxyethyl-triméthylazanium : C₅H₁₄NO) selon la réaction : $\text{acétate} + \text{choline} + \text{ATP} \rightarrow \text{Acétylcholine} + \text{ADP} + \text{P}_i$. En réalité l'énergie utilisée ne provient pas directement de l'ATP mais est transférée en amont à une molécule « chargée » énergétiquement : **l'acétyl-coenzyme A** qui possède une liaison **thioester** riche en énergie et qui provient de la réaction entre l'acétate et la coenzyme A.

La **coenzyme A** est composée de différents éléments : un nucléotide, l'adénosine (numéroté 1 sur le schéma ci-contre), un groupement diphosphate (numéroté 2 sur le schéma ci-contre), un groupement dihydroxydiméthylbutyrate (numéroté 3 dans le schéma ci-contre) et la β-alanine (numéroté 4 dans le schéma ci-contre) dérivés de la vitamine B5 ou acide pantothénique (ensemble 3+4 dans le schéma ci-contre) et un acide aminé (la cystéine numérotée 5 dans le schéma ci-contre.), légèrement modifiés et liés entre eux.

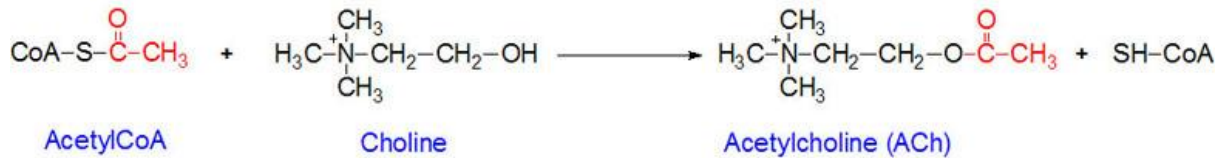


Ainsi, la coenzyme A est une molécule qui transporte de l'énergie comme le fait l'UDP-glucose par exemple, en revanche ce n'est pas le groupement diphosphate qui est impliqué dans les réactions impliquant la coenzyme A mais la liaison thioester (liée à l'atome de soufre) qu'elle peut former avec d'autres composés. Elle permet par exemple l'obtention d'un composé intermédiaire très présent dans de nombreuses réactions métaboliques (dont le cycle de Krebs) : l'acétyl-coenzyme A.

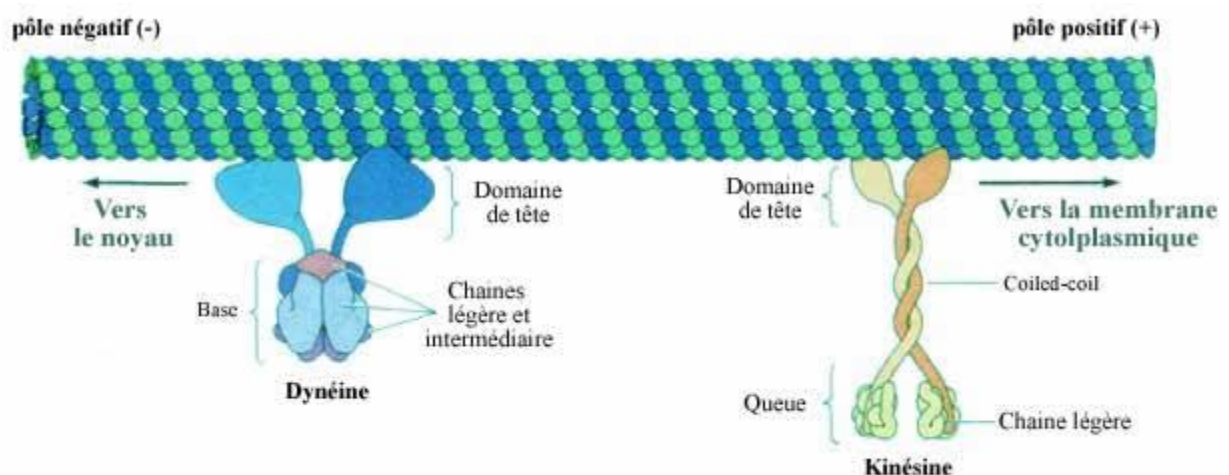
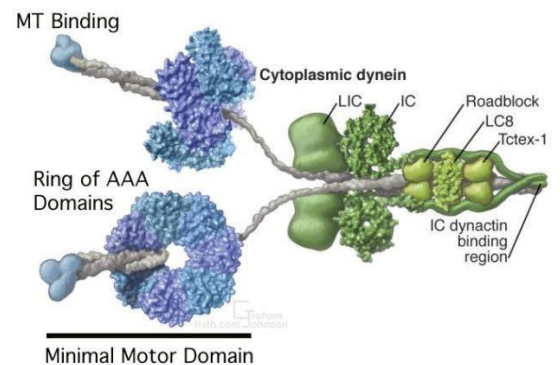
L'acétyl-coenzyme A, usuellement abrégée en acétyl-CoA, est la forme « activée » de l'acide acétique, c'est-à-dire le thioester qu'il forme avec la coenzyme A. C'est une molécule à haut potentiel d'hydrolyse, qui est au centre d'un carrefour métabolique. L'acétyl-CoA peut être liée à la **dégradation du pyruvate dans la mitochondrie** par décarboxylation oxydative suite à la glycolyse ou résulter de la β-oxydation des lipides

(hélice de Lypen). L'acétyl-CoA réagit avec l'oxaloacétate dans le cycle de Krebs mais peut aussi remonter la β -oxydation pour donner des acides gras (par un mécanisme différent) dans le cas d'excès de métabolites (alimentation) ou même donner naissance à des corps cétoniques (acétoacétate, acétone, α -hydroxybutyrate) dans le cas de jeûne prolongé.

L'**acétylcholine** est donc obtenue par la réaction entre l'acetylCoA et la choline, grâce à l'enzyme choline acétyltransférase :



- Le **transport de vésicules** à l'intérieur du cytoplasme ou les mouvements cellulaires (**battements de cils** bactériens ou **des flagelles**) grâce à l'intervention des **dynéines** ou des **kinésines**. Les **dynéines axonémales** sont fixées à l'un des microtubules des doublets présents en périphérie d'un axonème. Par une activité ATPasique, elles font glisser les tubules entre eux, provoquant leur courbure. Tous les tubules glissant simultanément, les cils et les flagelles sont ainsi mis en mouvement. Les **dynéines cytoplasmiques** sont fixées sur les microtubules du cytoplasme. Par une activité ATPasique, elles permettent les déplacements de vésicules qui leur sont associées, vers le centre de la cellule, c'est-à-dire vers l'extrémité négative des microtubules (mouvement rétrograde). Ce type de transport est particulièrement développé dans les axones et les dendrites des cellules nerveuses. Elles sont également impliquées dans la migration des intermédiaires pré-golgiens vers l'appareil de Golgi. Quant aux kinésines, le déplacement de ces transporteurs se fait vers la membrane plasmique soit en direction du pôle positif du microtubule (mouvement antérograde). Il y aurait environ 100 types de kinésines issues de 14 familles. La kinésine-1 étant la plus importante est aussi nommée kinésine conventionnelle



L'ATP est donc le donneur immédiat d'énergie libre de très loin le plus important dans les systèmes biologiques. Ce rôle d'intermédiaire, couplé au fait que les stocks d'ATP ne sont pas très importants, fait que cette molécule est soumise à un renouvellement intense, ce qui nécessite une production permanente, rapide et importante. Si on fait le calcul chez l'homme, on estime que la consommation énergétique moyenne d'un individu est d'environ 8360 kJoules (2000 kcal) par 24 heures. Cette énergie, contenue dans les molécules organiques (généralement glucides et lipides), doit servir à fabriquer de l'ATP avant d'être

utilisée par les cellules. Le rendement de cette synthèse est nécessairement inférieur à 1, de l'ordre de 0,5, le reste étant perdu sous forme de chaleur. C'est donc environ 4180 kJoules (1000 kcal) qui seront stockés transitoirement dans les molécules d'ATP puis utilisés par les cellules. Or, l'hydrolyse d'une mole d'ATP fournit 30,5 kJoules (7,3 kcal) dans les conditions standard mais près de 50 kJoules (12 kcal) en conditions physiologiques. Les 4180 kJoules fournis aux cellules correspondent donc à l'hydrolyse de 83,6 moles d'ATP, soit environ 46 kg. Sachant que le stock d'ATP/ADP pour tout l'organisme est d'environ 0,1 mole (autour de 50g), cela implique qu'il soit renouvelé 460 fois par jour, soit approximativement une fois toutes les 3 minutes. Cette valeur est une moyenne pour un organisme et peut être largement inférieure pour une cellule en cas de très forte demande énergétique (typiquement une cellule musculaire lors d'un effort intense) pour se chiffrer en secondes. Ce calcul est bien sûr basé sur de nombreuses approximations et le résultat n'est pas à prendre comme un chiffre exact, mais il donne un ordre de grandeur et permet de conclure qualitativement que l'ATP est une molécule possédant un turnover extrêmement rapide.

L'ATP participe largement à la régulation, et ceci à travers plusieurs mécanismes. Le premier correspond à la phosphorylation. Par définition une réaction de phosphorylation correspond à l'ajout d'un groupement phosphate sur une molécule, ce groupement phosphate provenant d'un ATP qui sert alors de donneur. Les enzymes catalysant ce type de réaction sont appelées des kinases. Précisons qu'il faut distinguer cette réaction de la phosphatation, qui correspond également à un ajout d'un groupement phosphate sur une molécule mais à partir d'un phosphate inorganique. Les enzymes catalysant ce deuxième type de réaction sont appelées phosphorylases. Les phosphorylations ont souvent un impact sur l'activité des molécules ainsi phosphorylées. Le cas le plus classique est une activation ou une inhibition de l'activité d'une enzyme. On peut citer pour exemple la glycogène synthase, enzyme impliquée dans la synthèse du glycogène, qui est inactive à l'état phosphorylé et active à l'état déphosphorylé. Mais il est amusant de constater que la glycogène synthase kinase, l'enzyme qui phosphoryle la glycogène synthase, est elle inactive à l'état déphosphorylé et active à l'état phosphorylé. Il n'y a donc pas de règle entre état phosphorylé/déphosphorylé et activation/inactivation. Un autre exemple qui démontre parfaitement cela provient de l'enzyme Cdk1 impliquée dans le contrôle du cycle cellulaire, en particulier de la transition phase G2/mitose. L'activité de la Cdk1 (Cyclin Dependant Kinase 1, Kinase 1 dépendante d'une cycline) est régulée par son association avec la cycline B, mais également par des phosphorylations. Cette molécule possède 3 sites de phosphorylations, dont deux sont inhibiteurs (Thr 14 et Tyr 15) et un activateur (Thr 161). Pour que l'enzyme soit active, il faut donc qu'elle soit associée à la cycline B, mais également qu'elle soit à la fois phosphorylée sur la Thr 161 et déphosphorylée sur les Thr 14 et Tyr 15. Enfin les phosphorylations peuvent également réguler des molécules autres que des enzymes. Ainsi la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine par la MLCK (Myosine Light Chain Kinase, kinase de la chaîne légère de la myosine) permet l'interaction actine-myosine et la contraction musculaire dans le muscle lisse.

L'ATP peut également intervenir directement dans la régulation de l'activité de certaines enzymes en tant qu'effecteur allostérique. D'une manière générale, un effecteur allostérique est une molécule qui se lie à une enzyme sur un site spécifique, qui ne participe pas à la réaction chimique catalysée, mais qui va modifier l'affinité de l'enzyme pour les substrats et du coup modifier son activité. Par définition, un effecteur allostérique ne peut exister que pour des enzymes allostériques, dont possédant plus d'une seule sous-unité. L'ATP est un effecteur allostérique classique de nombreuses enzymes intervenant dans le métabolisme, ce qui peut être interprété comme le moyen d'adapter finement et extrêmement rapidement l'activité métabolique à l'état énergétique des cellules. On peut prendre l'exemple de la PFK (PhosphoFructoKinase) qui catalyse la réaction Fructose 6 Phosphate + ATP → Fructose 1,6 Diphosphate + ADP. Elle fait partie de la glycolyse et correspond à l'étape d'engagement des glucides dans la voie de production d'énergie, on parle d'enzyme-clé. À ce titre elle est donc finement régulée. C'est une enzyme tetramérique (constituée de 4 sous-unités). L'ATP est un effecteur allostérique de cette enzyme. Pourtant c'est aussi un substrat. Mais l'ATP-substrat et l'ATP-effecteur allostérique se fixent sur des sites différents. L'ATP agit comme un inhibiteur de cette réaction, l'interprétation étant la suivante : lorsque la charge énergétique de la cellule est forte (rapport ATP/ADP élevé) il n'est pas nécessaire de produire beaucoup d'ATP. L'inhibition de la première étape qui mène vers la production d'ATP par l'ATP lui-même (via la glycolyse - le cycle de Krebs - et la chaîne de transporteurs d'électrons) va donc entraîner une diminution de cette production. Inversement, lorsque la charge énergétique de la cellule est faible (rapport ATP/ADP faible) il est nécessaire de produire beaucoup d'ATP. Comme la concentration en ATP est faible, il va y avoir une levée d'inhibition, ce qui revient à une activation de cette réaction et par suite de la production d'ATP.

Si l'ATP est trouvée à l'état libre dans les cellules, elle sert également de matériaux de construction pour la synthèse des acides nucléiques, la classe de macromolécules essentiellement en charge de l'information génétique. En effet, les acides nucléiques sont des polymères de nucléotides, chaque nucléotide étant lui-même constitué d'un sucre (ribose pour l'ARN, désoxyribose pour l'ADN), d'un acide phosphorique et d'une base azotée parmi 5 possibles (adénine, guanine, thymine, cytosine et uracile). L'ATP, le nucléotide possédant une adénine comme base azotée, participe donc à la fabrication de cette classe de macromolécules, au même titre que le GTP, le TTP, le CTP et l'UTP. Notons qu'en toute rigueur, ATP désigne le nucléotide à base d'adénine comportant du ribose, celui comportant du désoxyribose devant être appelé dATP.